



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

PROGRAMA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA VOLUNTÁRIA – PICVOL

**CARACTERIZAÇÃO DOS CARBOIDRATOS ESTRUTURAIS, SOLÚVEIS
LIVRES E DA LIGNINA PRESENTES EM PÓLEN APÍCOLA IN NATURA,
SECO, LIOFILIZADO, LIGHT E NO RESÍDUO DE PÓLEN LIGHT**

Caracterização de carboidratos solúveis livres em pólen apícola produzido em

Sergipe.

Área do conhecimento: Ciências Biológicas

Subárea do conhecimento: Genética

Especialidade do conhecimento: Biotecnologia de Produtos Naturais

Relatório Final

Período da bolsa: de (agosto de 2018) a (julho de 2019)

Este projeto é desenvolvido com bolsa de iniciação científica

PICVOL

Orientador: Edilson Divino de Araújo

Co-orientador: Wilson Romão Toledo da Silva

Autor: Sara Lorena de Pádua Souza



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

SUMÁRIO

1. Introdução.....	3
2. Objetivos.....	3
3. Metodologia.....	3
4. Resultados e discussões.....	6
5. Conclusões.....	10
6. Perspectivas.....	10
7. Referências bibliográficas.....	10
8. Outras atividades.....	13



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

1. INTRODUÇÃO

Atualmente é indiscutível a busca da população mundial, mais especificamente dos brasileiros, por saúde e bem-estar alimentício através de produtos mais naturais, sem tantos conservantes ou até sem intervenção nenhuma de aditivos químicos. No Brasil, mercadorias advindas ou relacionadas com as abelhas a exemplo o mel, própolis e pólen estão ganhando espaço no mercado. “O pólen apícola apresenta uma composição aproximada de 13 a 55% de carboidratos, 7 a 40% de proteínas, 1 a 20% de lipídeos, 3 a 28% de água, 2 a 6% de cinzas e 0,3 – 20% de fibra dietética” (MARTINS, 2010, p. 30 a 33). Além disso, possui demais substâncias com poder antibactericidas, altamente digestivos para o corpo humano, antioxidantes e de grande valor nutricional, o que atrai a atenção de diversas indústrias com capacidade de gerar diversos derivados do pólen apícola (MORAES & COLLA, 2006).

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Identificação de carboidratos solúveis presentes em diferentes tipos de pólen apícola.

2.2 Específicos

Realizar a extração dos carboidratos solúveis, medir a produtividade do extrato de carboidratos obtido do pólen e quantificar por HPLC as frações de carboidratos contidas no pólen apícola.

3. METODOLOGIA

A amostra de pólen apícola foi coletada na Associação de Apicultores do Brejo Grande e o pólen de *Melipona scutellaris*, muito conhecido como pólen de urucu, foi adquirido no meliponário da UFS, ambos no estado de Sergipe. A matéria prima passou pelo processo de limpeza e retirada de possíveis resíduos. Posteriormente foi armazenada à temperatura de - 20°C no intuito de conservar as propriedades de interesse.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

Foi realizada a pesagem em balança semianalítica de aproximadamente 5g de três repetições de pólen *in natura* e seco em seus estados comum e fermentado, do resíduo de pólen *in natura*, do pólen de urucu e blend, os quais foram embalados separadamente em papel filtro. Primeiramente, as amostras de pólen *in natura*, resíduo, seco, blend e urucu passaram pelo aparelho Soxhlet do Laboratório de Tecnologias Alimentos (LTA). No fim desse passo, três grupos diferentes de produtos foram obtidos: um dissolvido em etanol, outro com água milli-q e o resíduo sólido resultante da extração.

O procedimento ocorreu com dois solventes: água mili-q e etanol P.A. Inicialmente os pólenes foram expostos a 180 ml de água milli-q por 8 horas e armazenados posteriormente em potes de plástico. Após este passo, foi adicionado aos balões o mesmo volume de etanol P.A seguindo nova extração por 16 horas, ao final também armazenados em recipientes de plástico condicionados em freezer a -20°C. Os potes foram pesados antes de receberem as amostras.



Figura 1 e 2: Amostras em Soxhlet.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**



A segunda etapa foi formada pelo rotaevaporador: só os compostos dissolvidos no etanol P.A passaram pela mesma. Os exemplares foram transferidos para um balão próprio do aparelho e a separação dos solventes e solutos foi feita. O peso de cada balão foi aferido antes e depois de se colocar as amostras para que os pesos dos solutos fossem aferidos pela diferença entre os dois. Por conseguinte, todos foram dissolvidos em 10 ml de etanol P.A e conservados em pequenos recipientes no ultrafreezer (-80).

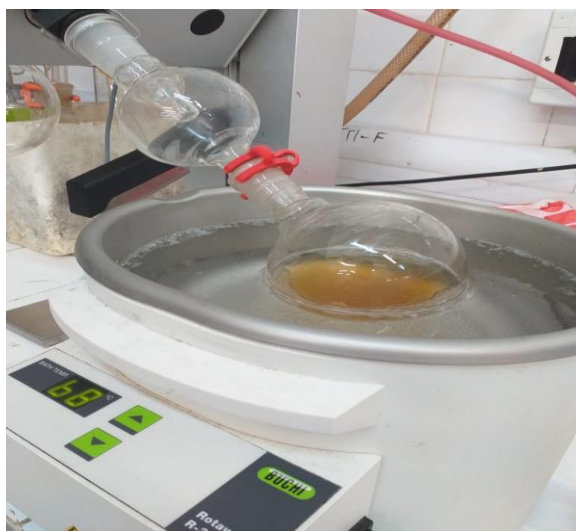


Figura 3: Amostra em balão volumétrico passando por separação de solutos e solvente no aparelho rotaevaporador.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

A terceira fase foi a passagem dos dissolvidos em água milli-q pelo liofilizador. As amostras foram colocadas na máquina dentro de potes de plástico que foram pesados antes e depois para que o peso dos produtos fosse adquirido pela diferença entre as duas pesagens. As amostras apresentaram diferenças de tempo para que ficassem prontas, devido às diferenças de certos compostos e respectivos volumes presentes em cada. No fim do processo, a constituição dos exemplares foi apenas pó. Houve diluição em 10 ml de água milli-q e armazenamento em ultrafreezer. Esta etapa e a segunda foram realizadas no laboratório LABORGANICS.



Figura 4: Amostras passando por liofilização.

O pólen light, único feito com 10 g, foi testado com o objetivo final de ser usado para degustação. Suas triplicatas passaram por etapas diferentes dos demais tipos polínicos: não passaram pelo Soxhlet nem por rotaevaporador, mas sim pelo processo de fermentação com uma hora em shaker e filtração. A partir daí, foi seguido o uso do liofilizador e os produtos finais deste é que vão servir como exemplares para degustação.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os dados obtidos até o momento estão disponíveis na tabela abaixo:



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

Tabela 1: Dados obtidos durante os 3 processos de análise de carboidratos solúveis: Soxhlet, liofilização e rotaevaporação.

Amostra	Peso (g)	Liofilização (Extrato Aquoso)					Rotaevaporação (Extrato Etanólico)				
		Recipiente (g)	Recipiente + Amostra (g)	Extrato Total (g)	Rendimento (%)	Rend. Médio (%)	Balão (g)	Balão + Amostra (g)	Extrato Total (g)	Rendimento (%)	Rend. Médio (%)
PÓLEN <i>in natura</i>	5,004	8,4026	10,9401	2,5375	50,71%	64,38%	149,771	150,9071	1,1359	22,70%	29,81%
	5,003	8,4827	11,8842	3,4015	67,99%		169,596	170,8742	1,2778	25,54%	
	5,006	8,3409	12,0671	3,7262	74,43%		169,596	171,6584	2,062	41,19%	
PÓLEN RESÍDUO	5,009	8,2833	10,2089	1,9256	38,44%	43,85%	169,596	170,8183	1,2219	24,39%	25,52%
	5,000	8,5244	10,8906	2,3662	47,32%		149,963	151,5127	1,5497	30,99%	
	5,002	8,535	10,8258	2,2908	45,80%		157,962	159,0212	1,0594	21,18%	
PÓLEN <i>in natura</i> - FERMENTADO	5,002	8,2152	9,2968	1,0816	21,62%	12,10%	139,18	141,1935	2,0132	40,25%	44,24%
	5,001	8,2608	8,3754	0,1015	2,03%		150,727	153,1645	2,4376	48,74%	
	5,005	8,2739	8,9069	0,633	12,65%		150,727	152,915	2,1881	43,72%	
PÓLEN SECO	5,001	8,2967	11,8595	3,5628	71,24%	62,86%	114,291	115,0073	0,7164	14,33%	14,35%
	5,003	8,3016	11,1664	2,8648	57,26%		129,135	129,9478	0,8126	16,24%	
	5,003	8,223	11,2293	3,0063	60,09%		129,153	129,7766	0,6241	12,47%	
PÓLEN SECO FERMENTADO	5,003	8,3687	8,8505	0,4818	9,63%	10,33%	150,77	152,8827	2,1127	42,23%	20,68%
	5,000	8,2266	8,8924	0,6658	13,32%		157,962	158,5504	0,5886	11,77%	
	5,005	9,4557	9,8576	0,4019	8,03%		149,771	150,173	0,4018	8,03%	
PÓLEN DE	5,001	8,4058	10,0614	1,6556	33,11%	20,47%	124,851	126,0906	1,2399	24,79%	15,92%



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

URUÇU	5,000	8,3816	9,1608	0,7792	15,58%		116,857	117,4583	0,6018	12,04%	
	5,000	8,2925	8,929	0,6365	12,73%		127,742	128,2886	0,5467	10,93%	
PÓLEN BLEND	5,000	8,2886	8,8524	0,5638	11,28%		114,289	115,6499	1,3613	27,23%	
	5,000	8,237	9,6106	1,3736	27,47%	24,23%	124,836	126,1549	1,3192	26,38%	22,26%
	5,002	8,2965	9,9943	1,6978	33,94%		127,741	128,3998	0,6591	13,18%	



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

Todas as triplicatas das 7 amostras de pólen passaram pelo aparelho liofilizador em 3 grupos diferentes, pois a máquina não comportava o total de amostras. A média de dias dentro do maquinário foi de 5 dias, ou seja, foram gastas no mínimo 3 semanas nesse processo. Os grupos que obtiveram maior rendimento foram o pólen *in natura* em seu estado (64,38% de extrato para cada grama de pólen), seu resíduo e o pólen seco. Os fermentados juntamente com o pólen de urucu e o blend apresentaram os piores rendimentos no final do processo sendo o pólen seco fermentado aquele que obteve pior rendimento 10% extrato por grama de pólen (conforme pode ser observado na tabela 1 abaixo).

Tais rendimentos menores nos pólenes fermentados são esperados uma vez que o pólen fermentado tem seus carboidratos utilizados como fonte de energia pelos microrganismos fermentadores durante o processo. Também o alto rendimento foi esperado, pois conforme documentado na literatura os carboidratos são a categoria de nutrientes com maior quantidade no pólen apícola (Barreto ET AL, 2005; Marchini et al. 2006; Modro ET AL, 2007). Já o pólen de urucu é naturalmente fermentado, visto que é um pólen armazenado pela abelha (Zucoloto, 1975), assim os carboidratos também são usados como fonte de energia para microrganismos fermentadores.

Na etapa de rotaevaporação, o tempo de finalização para cada amostra foi de meia hora. Os pólenes que demonstraram sucesso no ganho final nas 3 triplicatas foram o *in natura*, seu fermentado e o resíduo. Os demais apresentaram no geral um baixo rendimento final. As amostras encontram-se prontas para a análise por HPLC das frações dos carboidratos, no entanto por problemas com a coluna a ser usada e inviabilidade financeira de compra de nova coluna, tal passo será realizado no Laboratório de Flavore de Análises Cromatográficas, em razão de uma nova colaboração firmada para conclusão desta etapa do projeto, assim os dados acerca do das frações solúveis dos carboidratos do pólen não serão mostrados neste relatório, sendo que as análises já estão sendo realizados.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

As amostras passaram por boa parte das etapas necessárias. Devido a atrasos no decorrer do processo, o passo de análise de carboidratos solúveis com o aparelho HPLC não foi realizado até o momento, mesmo já possuindo autorização de uso de um exemplar do laboratório NARENDRA. Os exemplares seguem conservados em ultrafreezer. Mesmo com todos os infortúnios, as amostras vão passar pelo HPLC o mais rápido possível para que se conclua o projeto de pesquisa.

5. CONCLUSÕES

Foi possível obter um extrato de carboidratos do pólen apícola de quantidade relevante, sendo o mesmo de grande valor nutricional e possivelmente mercadológico, deste modo, sendo um futuro produto a ser trabalho em nossas pesquisas. Os métodos de extração se mostraram eficientes e o rendimento, principalmente para amostras de pólen *in natura* não fermentado, se mostraram altos e promissores. Aguardamos as análises das frações de carboidratos solúveis para que se possa entender quais os constituintes que compõem estes açúcares.

6. PERSPECTIVAS

- Seguir o término do projeto através de nova parceria formada com o Laboratório de Flavores de Análises Cromatográficas.
- Gerar um artigo científico deste trabalho em revista científica de ampla divulgação.
- Gerar uma patente a partir dos dados aqui obtidos e dos obtidos no trabalho de doutorado ao qual este projeto é associado.

7. REFERÊNCIAS

ADAIME, Martha. Cromatografia: Fundamentos, Instrumentação e Aplicações. AIQ: [s.n.], 2011. 1-71 p. Disponível em: <http://w3.ufsm.br/larp/media/introd_gc.pdf>. Acesso em: 01 jan. 2019.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

ALMARAZ-ABARCA, N. et al. Antioxidant activity of polyphenolic extract of monofloral honeybee-collected pollen from mesquite (*Prosopis juliflora*, Leguminosae). *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 20, n. 2, p. 119–124, mar. 2007.

ANDRADA, Ana Cristina; **TELLERÍA**, María Cristina. Pollen collected by honey bees (*Apis mellifera* L.) from south of Caldén district (Argentina): botanical origin and protein content. *Grana* 44: Taylor & Francis, p.2, 2005. p.2. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/303261040_Pollen_collected_by_honey_bees_Apis_mellifera_L_from_south_of_Calden_district_Argentina_botanical_origin_and_protein_content>. Acesso em: 21 dez. 2018.

CIOLA, Remolo. Fundamentos da cromatografia a líquido de alto desempenho: HPLC. São Paulo: Editora Blucher, 1998.

CORRADINI, Claudio. et al. High-Performance Anion-Exchange Chromatography Coupled with Pulsed Electrochemical Detection as a Powerful Tool to Evaluate Carbohydrates of Food Interest: Principles and Applications. *International Journal of Carbohydrate Chemistry*: Hindawi, 2012. 1- 14 p. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/ijcc/2012/487564/>>. Acesso em: 09 jan. 2019.

DAMY-BENEDETTI, Patrícia de C. *et al.* Liofilização. [S. l.]: UNILAGO, 2013.

EVERLAB ANALÍTICA. Rotavapor de laboratório. Disponível em: <https://www.everlab.com.br/rotavapor-laboratorio>. Acesso em: 29/06/2019.

GORIS, M. C. et al. Phytotherapy in chronic prostatitis. *Current Prostate Reports*, v. 7, n. 1, p. 39–43, 26 fev. 2009.

HESSE, Michael et al. Pollen Terminology. [S.l.]: Springer Wien New York, p.16, 2009. 16 p. Disponível em: <<https://www.dropbox.com/s/dyqxltc35aoirkz/Hesse.%202009.%20Pollen%20Terminology.pdf?dl=0>>. Acesso em: 24 jan. 2019.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

JOUE, L.; HOFFMANN, L.; HAUSMAN, J.-F. Polyamine, Carbohydrate, and Proline Content Changes During Salt Stress Exposure of Aspen (*Populus tremula* L.): Involvement of Oxidation and Osmoregulation Metabolism. [S.l.: s.n.], 2003. p. 2. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1055/s-2003-44687>>. Acesso em: 09 jan. 2019.

LEJA, M. et al. Antioxidative properties of bee pollen in selected plant species. Elsevier Food Chemistry, v. 100, n. 1, p. 237–240, 2007.

LEMES, Murilo Rocha. EXTRAÇÃO PELO MÉTODO DE SOXHLET. Tese (Graduação em Engenharia Química) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia- MG, 2018.

MARTINS, Márcia Cristina Teixeira. Pólen Apícola Brasileiro: Valor Nutritivo e Funcional, Qualidade e Contaminantes Inorgânicos, 2010. Tese (Mestre em Farmácia); Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP, p. 30 a 33, 2010.

MORAES, Fernanda P.; COLLA, Luciane M. Alimentos Funcionais e Nutracêuticos: Definições, Legislação e Benefícios à Saúde. Revista Eletrônica de Farmácia: [s.n.], 2006, p.2, v. 3. Disponível em: <<https://revistas.ufg.br/REF/article/viewFile/2082/2024>>. Acesso em: 26 dez. 2018.

NELSON, David L.; COX, Michael. Princípios de Bioquímica de Lehninger. [S. l.]: Artmed, 2014.

QIAN, Wei Liang et al. Analysis of sugars in bee pollen and propolis by ligand exchange chromatography in combination with pulsed amperometric detection and mass spectrometry. Journal of Food Composition and Analysis, [S. l.], n. 21, p. 78-83, 27 jun. 2007.

QUILICHINI, Teagen D.; GRIENENBERGER, Etienne; DOUGLAS, Carl J. The biosynthesis, composition and assembly of the outer pollen wall: A tough case to crack. Elsevier, [S. l.], n. 113, p. 170-182, 3 jun. 2014.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

SALIBA, Eloísa de Oliveira Simões et al. Ligninas – métodos de obtenção e caracterização química, 2000. 12 p. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cr/v31n5/a31v31n5.pdf>>. Acesso em: 10 jan. 2019.

SANTOS, I. D. Influência dos teores de lignina, holocelulose e extrativos na densidade básica, contração da madeira e nos rendimentos e densidade do carvão vegetal de cinco espécies lenhosas do cerrado; 57 p. 2008. 57 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais)- Faculdade de Tecnologia, Universidade de Brasília, Distrito Federal, 2008.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO. Técnicas de extração. Química orgânica experimental qui-186. Ouro Preto: [s. n.], 2015. Disponível em: http://professor.ufop.br/sites/default/files/legurgel/files/apostila_quimica_orgânica_i_experimental_qui-186.pdf. Acesso em: 24 jun. 2019.

9. OUTRAS ATIVIDADES

9.1 MINICURSO DE GESTÃO DO CURRÍCULO LATTES

Durante as 4 horas de duração do minicurso aprendi a gerenciar e organizar meu currículo na página do Lattes.

9.2 PAISAGENS SONORAS: RECITAL DE PIANO COM DIOGO OLIVEIRA

O evento consistiu em ouvir um recital de piano formado por músicas de diversas fases da música clássica.

9.3 WORKSHOP DE IMPRESSÃO 3D

O minicurso apresentou os diversos tipos de maquinários que existem para a obtenção de uma impressão 3D e os materiais usados como matéria-prima do objeto final a ser criado. Demonstrou também o funcionamento em tempo real de uma dessas máquinas.

9.4 PROMOVENDO APRENDIZAGEM SOBRE FUNGOS ATRAVÉS DA CONSTRUÇÃO DE MODELO DIDÁTICO



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

Neste minicurso bem prático, aprendi a criar materiais didáticos tendo como matéria-prima o biscoito e a tinta guache. Produzi dois modelos de fungos com base em imagens.

9.5 COMISSÃO ORGANIZADORA DO ENCONTRO SEMBIO (SEMANA DA BIOLOGIA).

Fiz parte da comissão organizadora deste encontro que durou uma semana e ocorreu nos dias 06 a 10 de maio de 2019; ocorreram palestras, mesas redondas, integração entre os calouros e veteranos e um bazar para arrecadação de fundos para o centro acadêmico. Algumas das minhas funções foram contactar palestrantes, conseguir patrocínios e divulgar o evento para os estudantes.

9.6 PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA NA BASE DE PATENTES DO INPI, WIPO E ESPACENET

O minicurso demonstrou como realizar buscas de patentes já criadas nas plataformas INPI, WIPO E ESPACENET para ter certeza de que nossa ideia para uma futura patente não já exista e realizemos plágio. Além disso, levamos em conta a burocracia e tempo que leva para que uma patente seja autorizada e liberada, então é bom pesquisar antes.